

Weiter geht aus den Messungen hervor, daß *nach einer Extremhyperthermie-Dosis für hochprozentige therapeutische Schädigung der Krebszellen der Glucoseverbrauch der geschädigten Zellen sprunghaft abnimmt*. Infolgedessen tritt die posttherapeutische Zunahme des effektiven Glucosespiegels in den Krebsgeschwülsten<sup>2</sup> z. B. nach dem Extremhyperthermie-Schritt sofort ein. Dieses Ergebnis ist für

die Abschätzung der zeitweiligen Stimulierung des Wachstums der Krebsgeschwülste im Anschluß an die Therapie von praktischer Bedeutung.

Die vorstehenden Untersuchungen erfolgten im Auftrage des *Staatssekretariates für Forschung und Technik der DDR*. Für Hilfen bei den experimentellen Arbeiten haben wir unseren Mitarbeiterinnen Frl. M. RIEDEL und Frl. CH. LOSE herzlich zu danken.

Über ein aus menschlichen und tierischen Geweben isoliertes Nucleoprotein mit Kollagen-fällenden Eigenschaften III

### Bindung des Nucleoproteins an ein Serumprotein

G. WILHELM

Max-Planck-Institut für Biophysik Frankfurt a. M.

(Z. Naturforschg. 21 b, 848—850 [1966]; eingegangen am 19. April 1966)

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß im menschlichen Serum ein Serumprotein vorhanden ist, welches das aus menschlichem Gewebe gewonnene Nucleoprotein spezifisch bindet. Zur Zeit sind Untersuchungen im Gang, den Serumgehalt des Nucleoproteins und des spezifisch bindenden Serumproteins bei verschiedenen Erkrankungen des Bindegewebsapparates quantitativ zu erfassen.

Das beschriebene Nucleoprotein ergibt bei Gewinnung aus foetalen menschlichen Organen mit menschlichem Serum deutliche Reaktionen im *Ouchterlony-Test* (Modifikation nach BEALE und MASON<sup>1</sup>).

Die Immunelektrophorese zeigt nun, daß sich das Nucleoprotein mit einem Serumprotein bindet, welches im Bereich des alpha-2-Makroglobulins liegt.

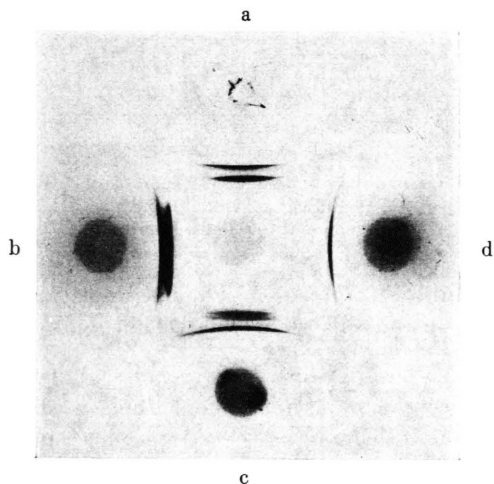


Abb. 1. In der Mitte Nucleoprotein aus foetalem Herz des Menschen (Verdünnung 1 : 1100). Außen vier menschliche Seren.

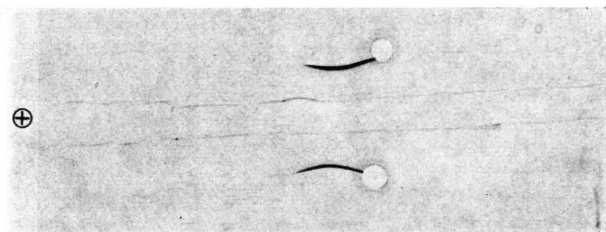


Abb. 2. Getrennt: Menschliches Serum, Veronalpuffer 0,1-m. pH 8,6, 50 Min., 200 V, diffundiert: Nucleoprotein aus foetalem Darm (Verdünnung 1 : 720).

Um die Spezifität der Bindung näher zu erfassen, wurden folgende Reaktionen ausgeführt:

- Nucleoprotein aus Kalbsdarm und Rattendarm ergibt gegen menschliches Serum im *Ouchterlony-Test* keine Reaktion.
- Nucleoprotein aus Hühnerblut ergibt gegen menschliche Seren im *Ouchterlony-Test* keine Reaktion.
- Nucleoprotein aus foetalen Organen des Menschen (Herz, Niere, Darm) ergibt mit menschlichen Seren deutliche Reaktionen, mit Kalbsdarm keine Reaktion.

<sup>1</sup> A. J. BEALE and P. J. MASON, *J. of Hyg.* **60**, 113 [1962]; P. GRABAR and C. A. WILLIAMS, *Biochem. biophysica Acta* [Amsterdam] **10**, 193 [1953]; Ö. OUCHTERLONY, *Ark. Kem., Mineralog. Geol., Ser. B* **26**, 1 [1958].

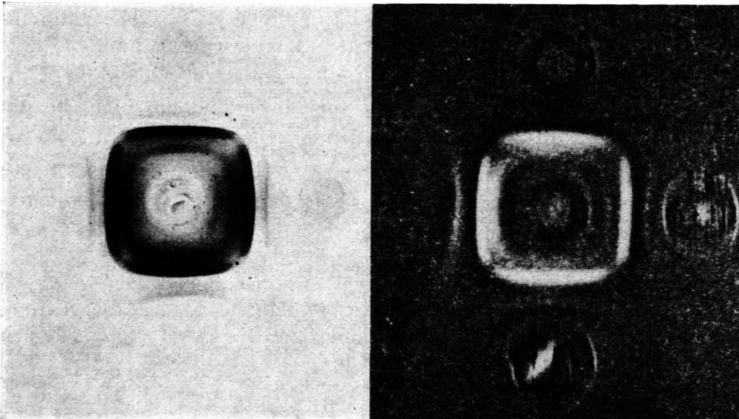


Abb. 3. Ouchterlony-Test: In der Mitte ist Nucleoprotein aus foetalem Darm des Menschen aufgetragen, links Aufnahme nach Amidoschwarzfärbung, rechts Ultraviolett-Print vor der Färbung.

Um die spezifische Bindung näher zu belegen, wurden mit einem UV-Monochromator Aufnahmen der Ouchterlony-Testung bei einer Wellenlänge von  $260 \mu$  angefertigt.

Die Linien wurden in weiteren Versuchen ausgeschnitten, eluiert und im UV-Spektrographen gemessen. Es ergab sich ein Absorptionsmaximum bei  $259 m\mu$ .

In weiteren Versuchen wurde das Nucleoprotein mit Papain und Ribonuclease behandelt.

*Methode*

1. Zu 0,2 ml Nucleoprotein-Lösung (24,5 mg/ml) aus foetaler Leber wurde 0,2 ml Papainlösung (0,1-m. Phosphatpuffer pH 6,9, 0,005-m. Cysteinhydrochlorid, 0,005-m. Tritreplex 3, 500 mg-% Papain) gegeben und 15 Stdn. bei  $40^\circ C$  bebrütet.

2. Zu 0,2 ml Nucleoprotein-Lösung aus foetaler Leber wurde 0,2 ml Ribonuclease-Lösung (5 mg-% kristallisierte Ribonuclease in 0,1-m. Acetatpuffer pH 5,0) gegeben und 20 Stdn. bei  $20^\circ C$  bebrütet.

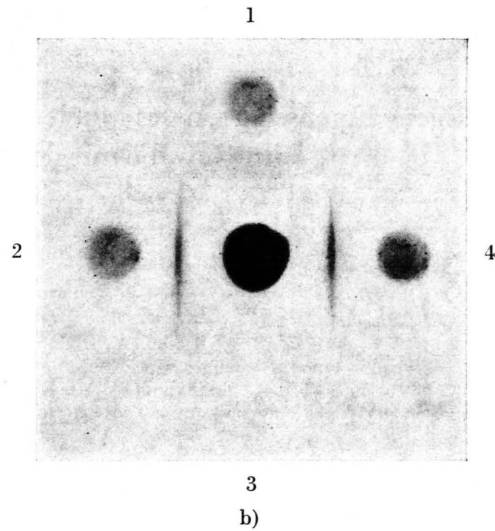
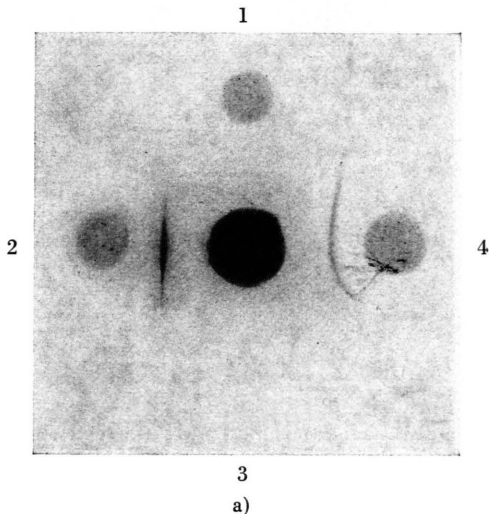


Abb. 4. Ouchterlony-Test: In der Mitte ist menschliches Serum aufgetragen. a) 1. Papain+Eiweiß, 2. Puffer+Eiweiß, 3. Papain+Puffer, 4. Kochsalz 0,9-proz.+Eiweiß. b) 1. Ribonuclease+Eiweiß, 2. Puffer+Eiweiß, 3. Ribonuclease+Puffer, 4. 0,9-proz. Kochsalzlösung+Eiweiß. Nucleoprotein-Konzentration 1 : 80.



Die Ouchterlony-Teste zeigen, daß die Bindung an das menschliche Serumprotein sowohl nach Verdauung mit Papain wie nach Verdauung mit Ribonuclease verloren geht. Hieraus ist zu entnehmen, daß nur das intakte Nucleoprotein von dem beschriebenen Serumprotein gebunden werden kann.

In weiteren Versuchen wurde die Bindung des Nucleoproteins mit reinen Serumproteinen getestet. Die Testungen mit den folgenden reinen Serumproteinen verliefen sämtlich negativ:

Albumin, saures alpha-1-Glykoprotein, alpha-1-Antitrypsin, alpha-1-Lipoprotein, alpha-2-Makroglobulin, beta-1a-Globulin, beta-Lipoprotein, alpha-

2-Lipoprotein, Gamma-A-Globulin, Gamma-M-Globulin, Gamma-G-Globulin.

Das Nucleoprotein zeigte hierbei mit menschlichen Seren immer wieder die beschriebene Reaktion. Auch im Serum eines Patienten mit einer A-Gamma-Globulinämie trat die Reaktion unverändert auf. Das Präzipitat ist mit Sudanschwarz anfärbbar, dies läßt jedoch keinen Schluß darauf zu, daß es sich bei dem bindenden Protein um ein Lipoprotein handelt, da das Nucleoprotein wie beschrieben einen fest gebundenen, mit Sudanschwarz färbbaren Lipidanteil enthält. Es hat den Anschein, daß es sich bei

dem das Nucleoprotein bindende Serumprotein um ein noch unbekanntes Serumprotein handelt, das nach den angestellten Reaktionen spezifische Bindungseigenschaften für das Nucleoprotein besitzt und dieses im Körper transportiert. Interessant hierbei ist außerdem, daß im Serum das Nucleoprotein nachgewiesen werden kann, also als normaler Serumbestandteil vorkommt.

Herrn Dr. SCHWICK von den Behringwerken Marburg danke ich herzlich für die Überprüfung verschiedener Reaktionen und für die Testung mit den reinen Serumproteinen.

Über ein aus menschlichen und tierischen Geweben isoliertes Nucleoprotein mit Kollagen-fällenden Eigenschaften IV

## Antigene Eigenschaften des Nucleoproteins und Lokalisierung des Nucleoproteins im Gewebe mit der Immunfluoreszenz-Methode

G. WILHELM

Max-Planck-Institut für Biophysik Frankfurt a. M.

(Z. Naturforschg. 21 b, 850—852 [1966]; eingegangen am 19. April 1966)

Das aufgefundene Ribonucleoprotein besitzt die Eigenschaft eines Vollantigens. Die durchgeführten Immunisierungsversuche ergaben eine Artspezifität des Antigens. Eine Organspezifität war nicht nachweisbar. Erste Lokalisierungsversuche mit Hilfe der Immunfluoreszenz-Methode ergaben in der Niere eine besondere Anreicherung des Nucleoproteins in den Glomerulokapseln.

### A. Antigene Eigenschaften

Die gute Wasserlöslichkeit des Nucleoproteins ließ vermuten, daß der Stoff antigene Eigenschaften besitzt. Es wurden deshalb Kaninchen mit Nucleoprotein aus Rattendarm, Kalbsdarm, Hühnerherz und foetaler menschlicher Leber immunisiert. 10 mg Antigen wurden zusammen mit Freund'schem Adjuvans in die vier Extremitäten injiziert. Nach 10 bis 15 Tagen erhielten die Tiere jeweils 5 bzw. 10 mg i.v. Im Serum der immunisierten Tiere ließen sich in der Präzipitinreaktion, im Ouchterlony-Test und in der Immunelektrophorese Antikörper nachweisen. Als Beispiel soll der Ouchterlony-Test und die Immunelektrophorese von mit Nucleoprotein aus Rattendarm immunisierten Kaninchen dienen.

Abb. 1. In der Mitte ist Nucleoprotein aus Rattendarm in einer Verdünnung von 1 : 100 aufgetragen. Außen Kaninchen-Antiserum, in den Löchern 1, 2, 3 und 4 ist hierbei das Serum vom immunisierten Kaninchen, in 5, 6, 7 und 8 vom nicht

immunisierten Kaninchen aufgetragen. Die unterschiedliche Stärke der Reaktion rührt von einer Verdünnungsreihe des Serums her.

